

17. června 2008

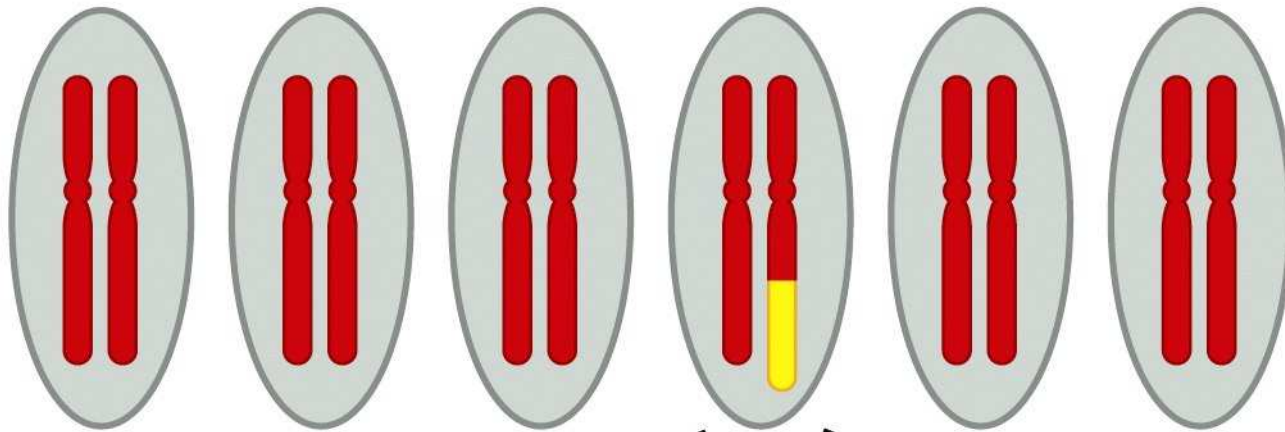
**„Strážce genomu“
protein zvaný p53**

Bořivoj Vojtěšek
Masarykův onkologický ústav, Brno

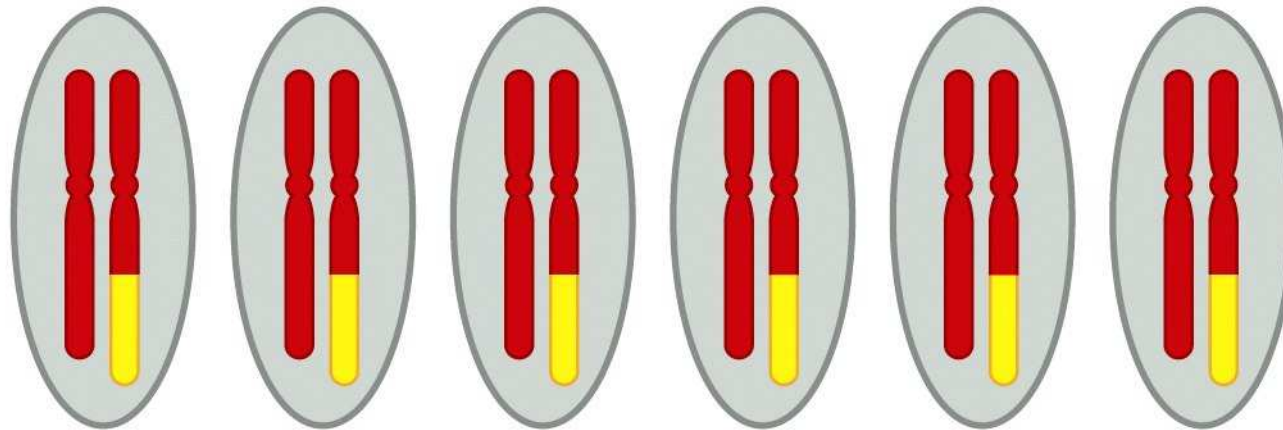
Nádor:

- Abnormální růst buněk, které mají sklon **k nekontrolovanému dělení** a v některých případech i k metastázování, tedy k rozšiřování se po organismu.
- Podle definice je **nádor „nemoc genů“**. Geny jsou malé úseky DNA, které nesou základní informaci o proteinech, které se pak podílí na procesech nezbytných k funkci každé buňky a umožňují našemu tělu dýchat, myslet, pohybovat se atd.
- Mnohé geny kódují **proteiny zodpovědné** za kontrolu procesu **růstu a dělení buněk**. Vyvolané změny v DNA (bodové mutace, inserce, delece atd.) mají za následek vznik (i) proteinů se změněnou funkcí, které **ztrácejí schopnost regulovat růst i dělení buněk** nebo (ii) proteinů, které naopak **podporují nekontrolované dělení a růst buněk**.

normální tkáň

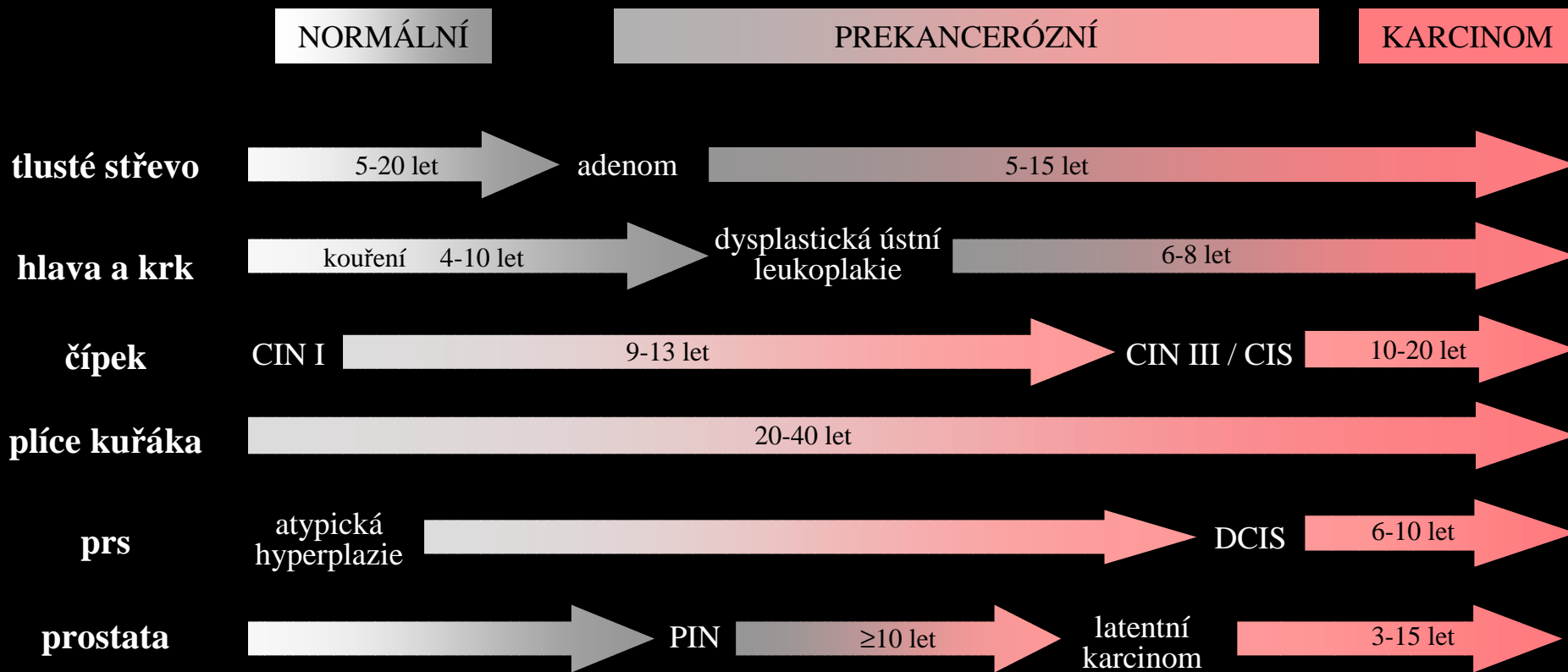
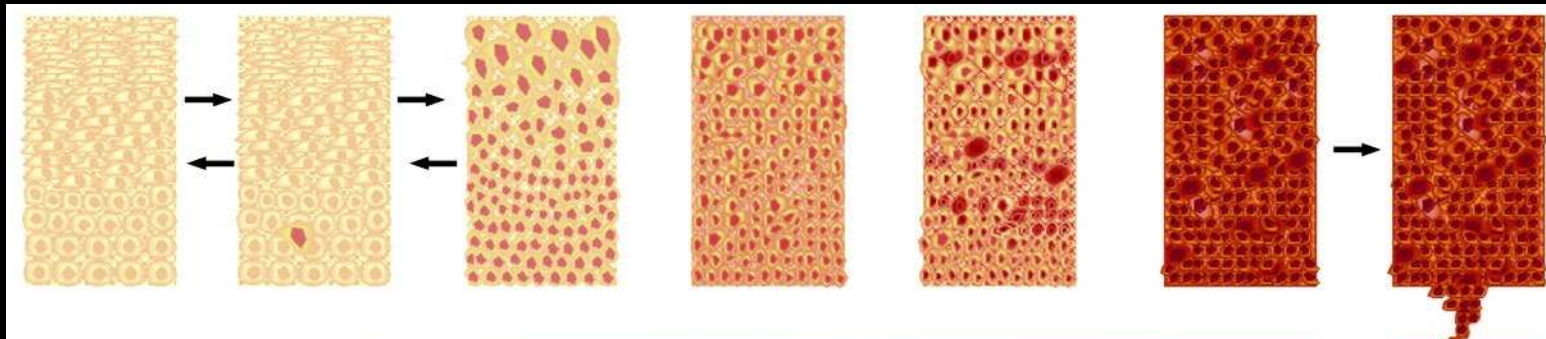


nádorová tkáň



Nádorový proces je mnohastupňový

POČÁTEČNÍ STŘEDNÍ POKROČILÝ CIS



Objevení onkogenů!

*ONCOGENES OF RNA TUMOR VIRUSES AS
DETERMINANTS OF CANCER*

1969

BY ROBERT J. HUEBNER AND GEORGE J. TODARO

VIRAL CARCINOGENESIS BRANCH, NATIONAL CANCER INSTITUTE, NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH,
BETHESDA, MARYLAND

Communicated September 16, 1969

Abstract.—Evidence from sero-epidemiological studies and from cell culture studies supports the hypothesis that the cells of many, and perhaps all, vertebrates contain information for producing C-type RNA viruses. It is postulated that the viral information (the virogene), including that portion responsible for transforming a normal cell into a tumor cell (the oncogene), is most commonly transmitted from animal to progeny animal and from cell to progeny cell in a covert form. Carcinogens, irradiation, and the normal aging process all favor the partial or complete activation of these genes. An understanding of how normal cells and normal animals prevent expression of endogenous viral information would appear to offer one of the best hopes for the control of naturally occurring cancers.

Jako první byly ve vztahu k tvorbě nádorů objeveny geny RNA virů v genomu obratlovců odpovědné za transformaci normální buňky na buňku nádorovou (nazvané onkogeny), které byly částečně nebo i kompletně aktivovány karcinogeny, zářením nebo i normálním procesem stárnutí.

Co z toho vyplynulo?

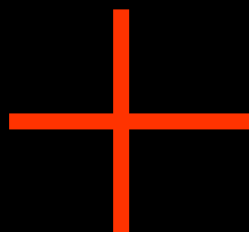
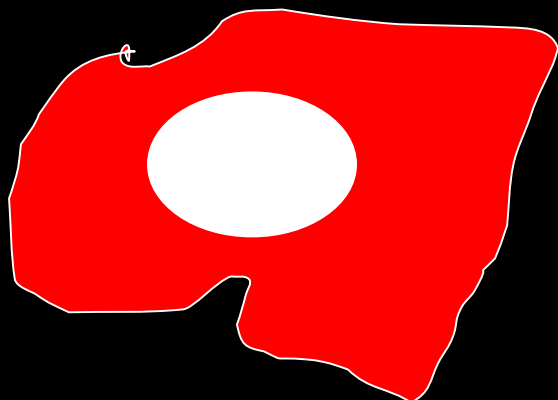
Pochopení mechanismů, kterými se normální buňka brání expresi těchto endogenních virových informací, může vést k nalezení cesty potenciální terapie některých typů nádorů.

Identifikace sekvencí s funkcí nádorových supresorových genů

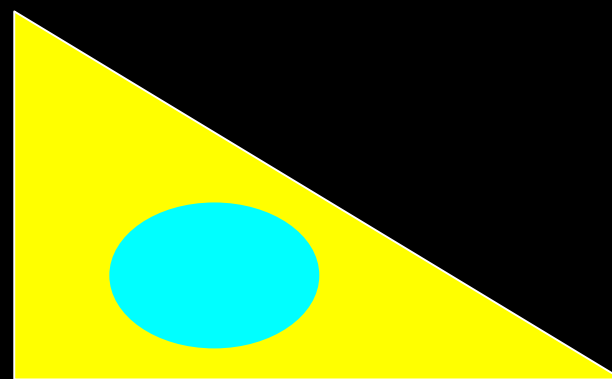
- I. Analýza buněčných hybridů.**
- II. Analýza transformace buňky onkogenními DNA viry.**
- III. Analýza genů kódující vrozené sklony k rakovině.**

I. Fúze buněk

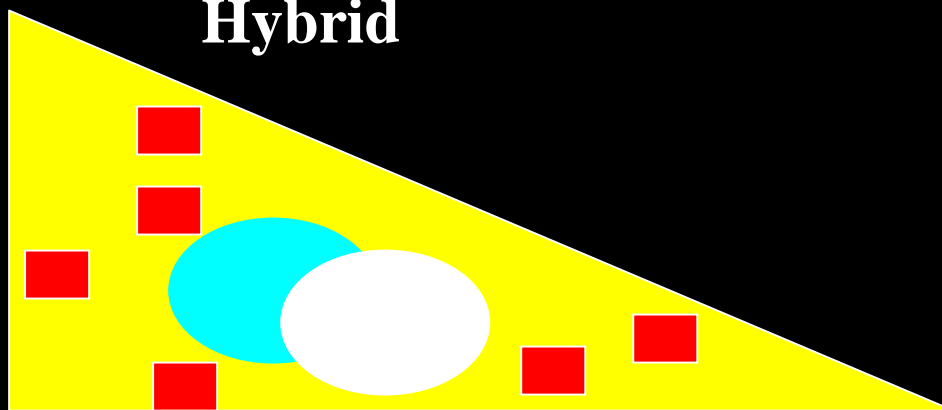
Nádorová buňka



Normální buňka



Hybrid



Výsledky fúze

- **Hybridní buňky rostou jako normální buňky.**
- **Charakteristika maligního růstu je recesivní. Normální buňky potlačují abnormální růst.**
- **V případě ztráty některých chromozomů normálních buněk v hybridních, se maligní růst znovu projeví.**
- **Nesouhlasí s teorií o onkogenech.**

Identifikace sekvencí s funkcí nádorových supresorových genů

- I. Analýza buněčných hybridů.
- II. Analýza transformace buňky onkogenními DNA viry.
- III. Analýza genů kódující vrozené sklony k rakovině.

II. Onkogenní DNA viry 1

- **DNA genom**
- **Schopnost transformovat buňky v kultuře**
- **SV40, Polyomavirus,
Adenovirus (u imunosuprimovaných zvířat)**
- **Lidský Papillomavirus (HPV) - rakovina děložního hrdla**
- **Virus Epstein a Barrové (EBV) - Burkittův lymfom**

II. Onkogenní DNA viry 2

- **SV40:**
velký T antigen
- **Adenovirus:**
proteiny rané fáze exprese E1a, E1b
- **HPV:**
proteiny E6 a E7

Objevení proteinu p53

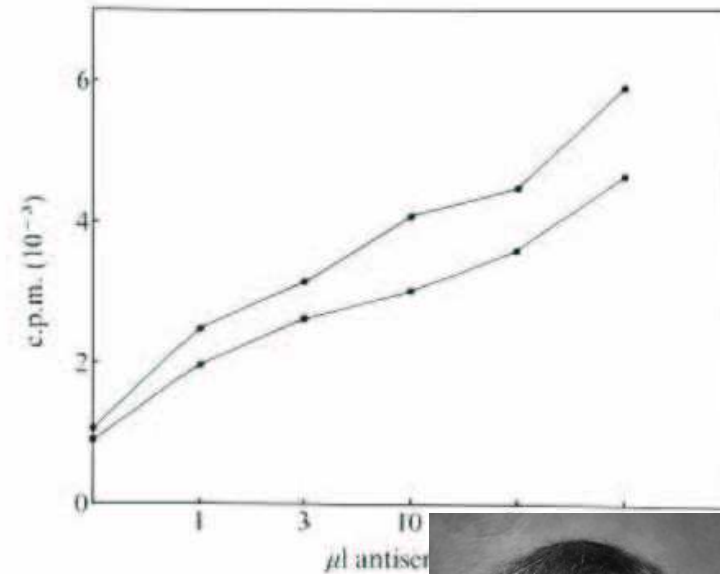
(Reprinted from Nature, Vol. 278, No. 5701, pp. 261-263, March 15, 1979)

© Macmillan Journals Ltd., 1979

March 15th 1979

T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells

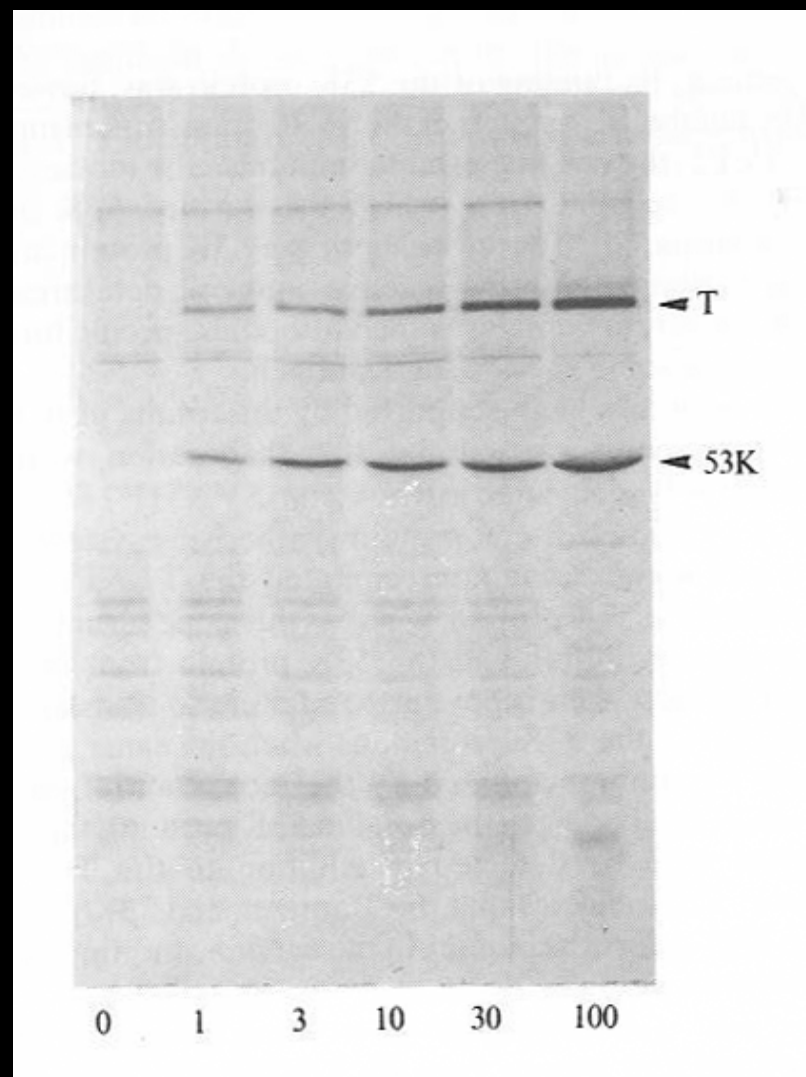
THE early region of the small DNA tumour virus, simian virus 40 (SV40), is known to code for at least two polypeptides, the t and T antigens ('small t' and 'large T'). Both these polypeptides are expressed in cells transformed by the virus¹⁻⁴, and the T antigen is essential for both the initiation and maintenance of the transformed state⁵⁻⁹. We therefore need to investigate the mechanism of SV40-induced transformation and to determine whether the T antigen in a line of transformed cells forms an oligomeric complex with components of the host cell machinery. We have found that the T antigen in a line of SV40-transformed mouse cell line binds to a host protein with a molecular weight of 54,000, which is identified by as little as 1 μ l of a rabbit antiserum.



Virology. **1979 Oct 30**; 98(2):308-18.

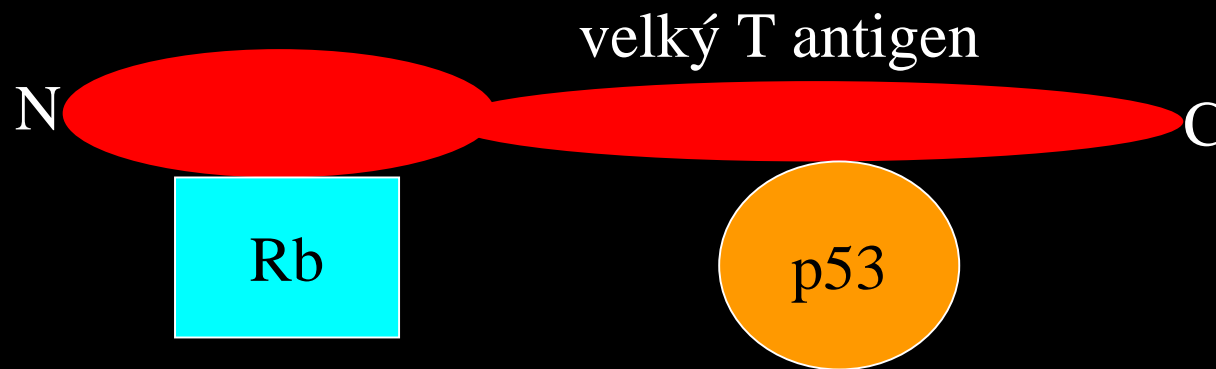
The SV40 A gene product is required for the production of a 54,000 MW cellular tumor antigen. Linzer DJ, Maltzman W, Levine AJ.

Originální obrázek gelu dokumentující objevení proteinu p53



Proteiny onkogenních DNA virů inaktivují nádorové supresorové proteiny p53 a Rb

SV40

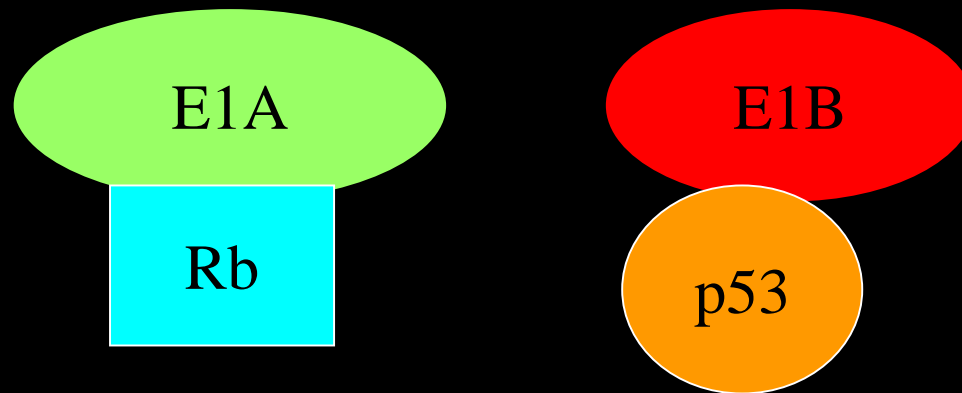


Interakce nalezena imunochemicky.

**Protilátky proti velkému T antigenu imunoprecipitovaly
asociované proteiny.**

Proteiny onkogenních DNA virů inaktivují nádorové supresorové proteiny p53 a Rb

Adenovirus



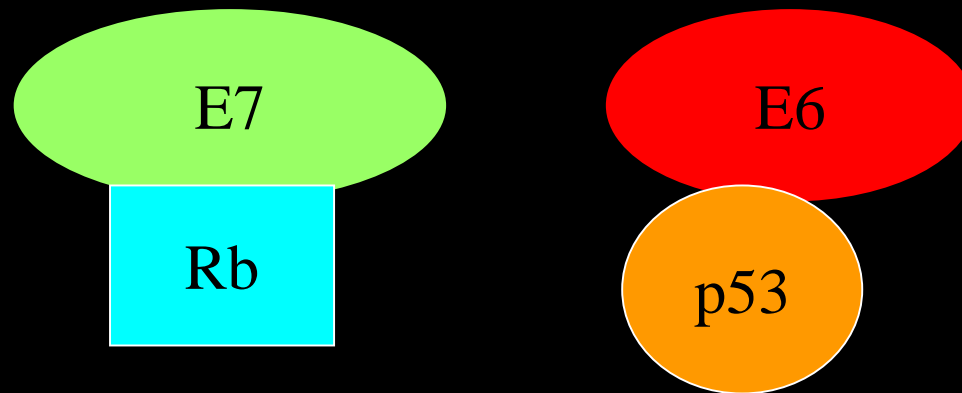
Interakce nalezena imunochemicky.

Protilátky proti E1A imunoprecipitovaly pRb.

Protilátky proti E1B imunoprecipitovaly p53.

Proteiny onkogenních DNA virů inaktivují nádorové supresorové proteiny p53 a Rb

HPV



Interakce nalezena imunochemicky.

Protilátky proti E7 imunoprecipitovaly pRb.

Protilátky proti E6 imunoprecipitovaly p53.

Proteiny onkogenních DNA virů inaktivují nádorové supresorové proteiny p53 a Rb

Podobnosti a rozdíly:

- Váží p53 odlišným způsobem
 - a) T a E1b **stabilizují**, ale inaktivují
 - b) E6 způsobuje rozklad
- Všechny váží pRb pomocí stejného peptidového sekvenčního motivu

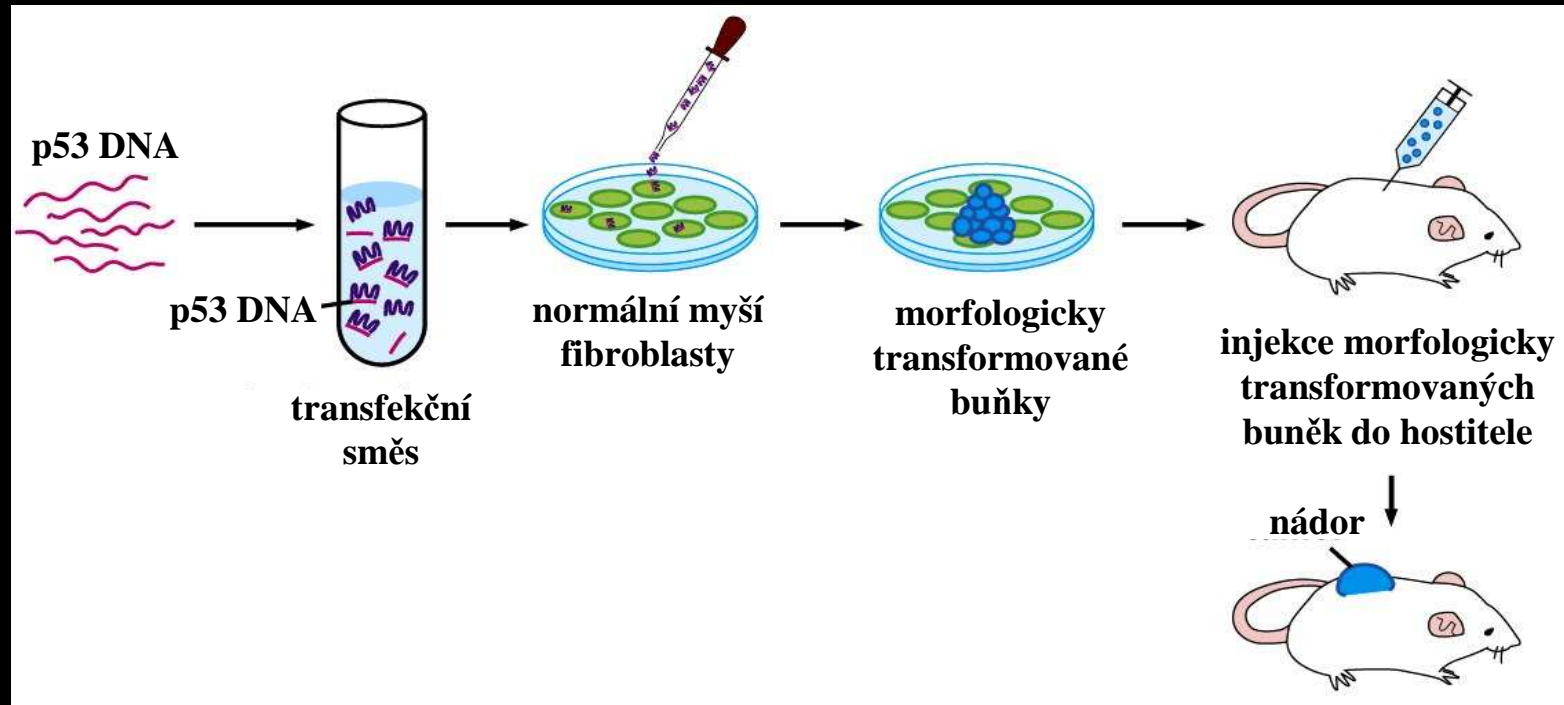
Proč nebyla od počátku objevení proteinu p53 jasná jeho funkce?

Historie proteinu p53 probíhala velmi chaoticky mezi světem onkogenů a světem nádorových supresorů.

Byla poznamenána jedním velkým **arteficiálním problémem**, který způsobilo neúmyslné naklonování mutované formy genu p53 v laboratoři, která jej pak poskytla dalším pracovištím.

Určitý podíl viny na původní dvojsmyslnosti funkce proteinu p53 má rovněž náš sklon k přílišné kategorizaci výsledků ve smyslu uspokojovat náš zjednodušený pohled na vědu.

Experimenty potvrzující onkogenní funkci proteinu 53



Nature. **1984 Dec 13-19**; 312(5995): 596-7.

Cell immortalization and transformation by the p53 gene.

Lane DP.

První zmínky o rozdílných funkcích mutované a nemutované formy proteinu p53?

MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, Feb. 1988, p. 531-539
0270-7306/88/020531-09\$02.00/0
Copyright © 1988, American Society for Microbiology

1988

Vol. 8, No. 2

Activating Mutations for Transformation by p53 Produce a Gene Product That Forms an hsc70-p53 Complex with an Altered Half-Life

C. A. FINLAY,¹ P. W. HINDS,¹ T.-H. TAN,¹ D. ELIYAHU,² M. OREN,² AND A. J. LEVINE^{1*}

Department of Molecular Biology, Princeton University, Princeton, New Jersey 08544,¹ and Weizmann Institute of Science, Rehovot 76,100, Israel²

Received 21 September 1987/Accepted 31 October 1987

The 11-4 p53 cDNA clone failed to transform primary rat fibroblasts when cotransfected with the *ras* oncogene. Two linker insertion mutations at amino acid 158 or 215 (of 390 amino acids) activated this p53 cDNA for transformation with *ras*. These mutant cDNAs produced a p53 protein that lacked an epitope, recognized by monoclonal antibody PAb246 (localized at amino acids 88 to 110 in the protein) and preferentially bound to a heat shock protein, hsc70. In rat two populations of p53 proteins were detected, PAb246⁺ monoclonal antibody, respectively. The PAb246⁻ p53 prefer a half-life 4- to 20-fold longer than free p53 (PAb246⁺). T1 in the transformation process. cDNAs for p53 derived from rat cells in cooperation with the *ras* oncogene and produce Recombinant clones produced between a Meth A cDNA and cells. A single amino acid substitution at residue 132 transformation. These studies have identified a region by which, when mutated, can activate the p53 cDNA. These wild-type sequence is and whether a wild-type p53 gene c

REVIEW

p53: oncogene or anti-oncogene? 1990

David P. Lane¹ and Sam Benchimol²

¹Imperial Cancer Research Fund, Clare Hall Laboratories, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3LD UK, ²The Ontario Cancer Institute, University of Toronto, Toronto, Ontario, M4X 1K9 Canada

The products of two groups of DNA tumor viruses bind p53

p53, a 375-amino-acid nuclear phosphoprotein, was first detected because it formed a tight complex with the SV40 large-T antigen (Lane and Crawford 1979; Linzer and Levine 1979) and therefore was coimmunoprecipitated with anti-T antibodies from extracts of SV40-transformed cells. This observation revealed the first example of such a complex between a viral oncogene and a host protein and served as a precedent for the discovery of a large number of protein-protein interactions between the products of oncogenes and other proteins. For

frog, chicken, and bony fish. The frog and rodent proteins bind tightly to SV40 large-T antigen, whereas the human and monkey proteins form a much less stable complex. Comparison of the amino acid sequences of all these p53 proteins reveals five blocks of particularly highly conserved sequence (for review, see Jenkins and Sturzbecher 1988). Several of these blocks are important for the interaction with large-T antigen, leading to the suggestion that they may represent sites of interaction with host cell proteins that are mimicked by large-T antigen.

První zmínka o pojmu „Gain of Function“ proteinu p53



Different Tumor-Derived p53 Mutants Exhibit
Distinct Biological Activities

1990

ORNA HALEVY, DAN MICHALOVITZ, MOSHE OREN*

In its wild-type form, the protein p53 can interfere with neoplastic processes. Tumor-derived cells often express mutant p53. Full-length mutant forms of p53 isolated so far from transformed mouse cells exhibit three common properties in vitro: loss of transformation-suppressing activity, gain of pronounced transforming potential, and ability to bind the heat shock protein cognate hsc70. A tumor-derived mouse p53 variant is now described, whose site of mutation corresponds to a hot spot for p53 in human tumors. While absolutely nonsuppressing, it is only weakly transforming and exhibits no detectable hsc70 binding. The data suggest that the ability of a p53 mutant to bind endogenous p53 is not the sole determinant of its oncogenic potential. The data also support the existence of gain-of-function p53 mutants.

Definitivní ustálení pojmu „Gain of Function“ pro protein p53



Nature Genetics 4, 42 - 46 (1993)

Gain of function mutations in p53

Dirk Dittmer¹, Sibani Pati¹, Gerard Zambetti¹, Shelley Chu¹,
Angelika K. Teresky¹, Mary Moore¹, Cathy Finlay¹ & Arnold J.
Levine¹ ¹Department of Molecular Biology, Princeton
University, Princeton, New Jersey 08544-1014, USA

Identifikace sekvencí s funkcí nádorových supresorových genů

- I. Analýza buněčných hybridů.
- II. Analýza transformace buňky onkogenními DNA viry.
- III. Analýza genů kódující vrozené sklony k rakovině.

III. Vrozené sklony k rakovině 1-10% nádorů

- **Retinoblastom** pRb gen
- **Li-Fraumeniho Syndrom** p53 gen
- **HNPCC** Mut S gen
- **APC** APC gen
- **Nádor prsu** BRCA1/2 gen
- **Melanom** p16

III. Vrozené sklony k rakovině

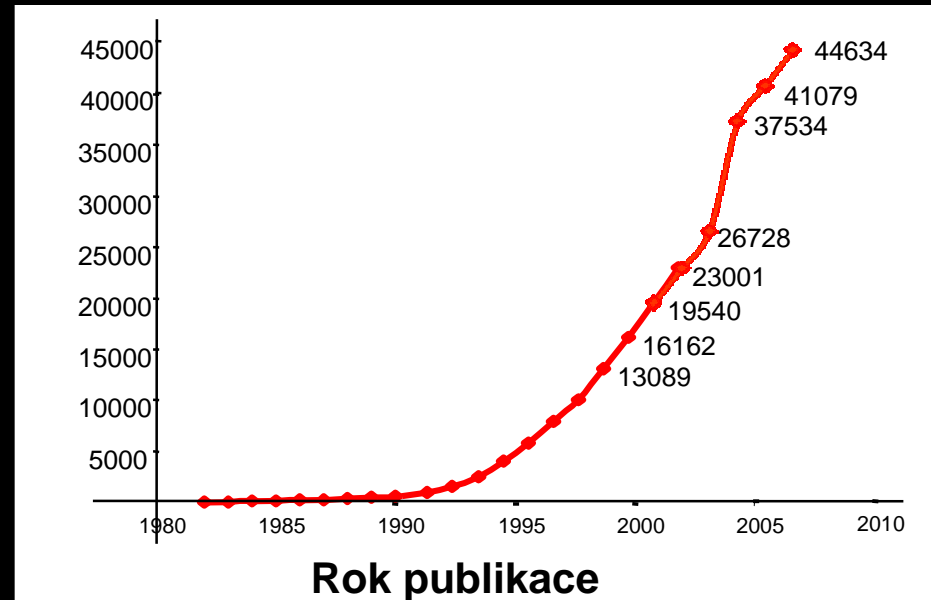
- **Defekty v regulaci buněčného cyklu.**
- **Defekty v odpovědi buňky na stres.**
- **Defekty v DNA reparačních mechanismech.**

Protein p53

- Defekty v regulaci buněčného cyklu.
- Defekty v odpovědi buňky na stres.
- Defekty v DNA reparačních mechanismech.
- Defekty p53 v zárodečných buňkách způsobují celkovou náchylnost k rakovině.
- Somatické mutace ve více než 50% nádorů.
- Myši bez p53 mají rakovinu.

Vývoj publikační aktivity v oblasti p53

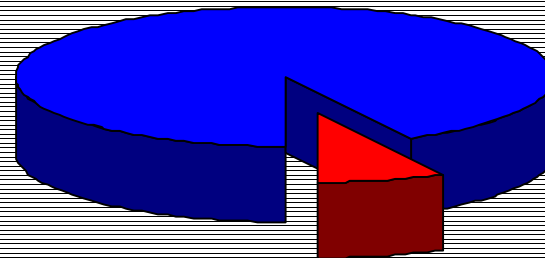
Počet publikací týkajících se p53 ke 31. 12. 2007
(zdroj National Library of Medicine - PubMed)



Data z WEB of SCIENCE 92%

54565 = 100%

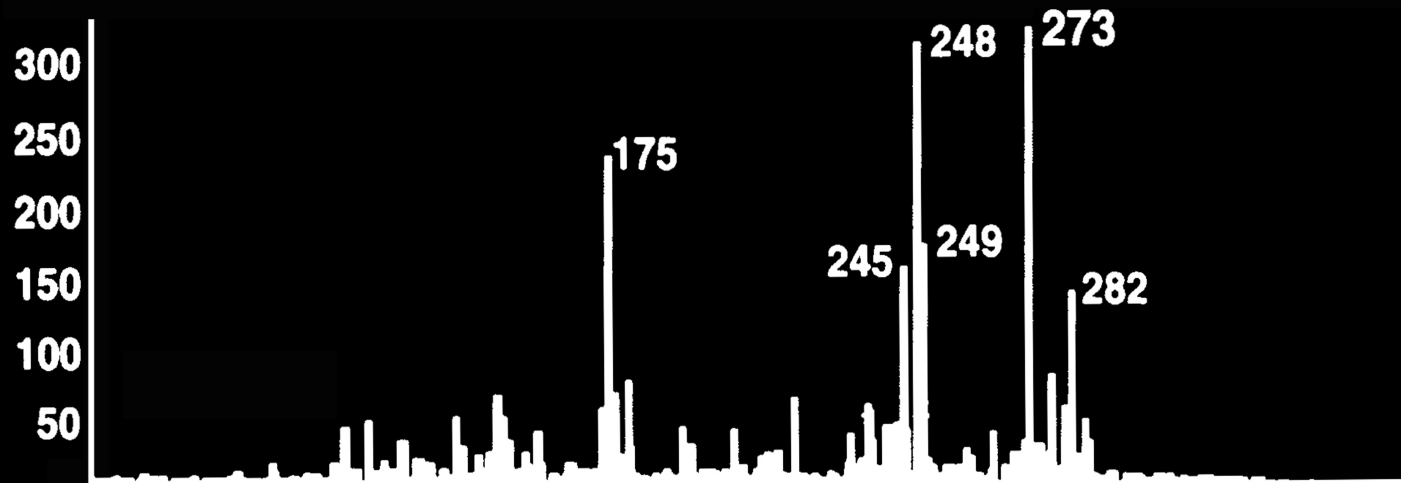
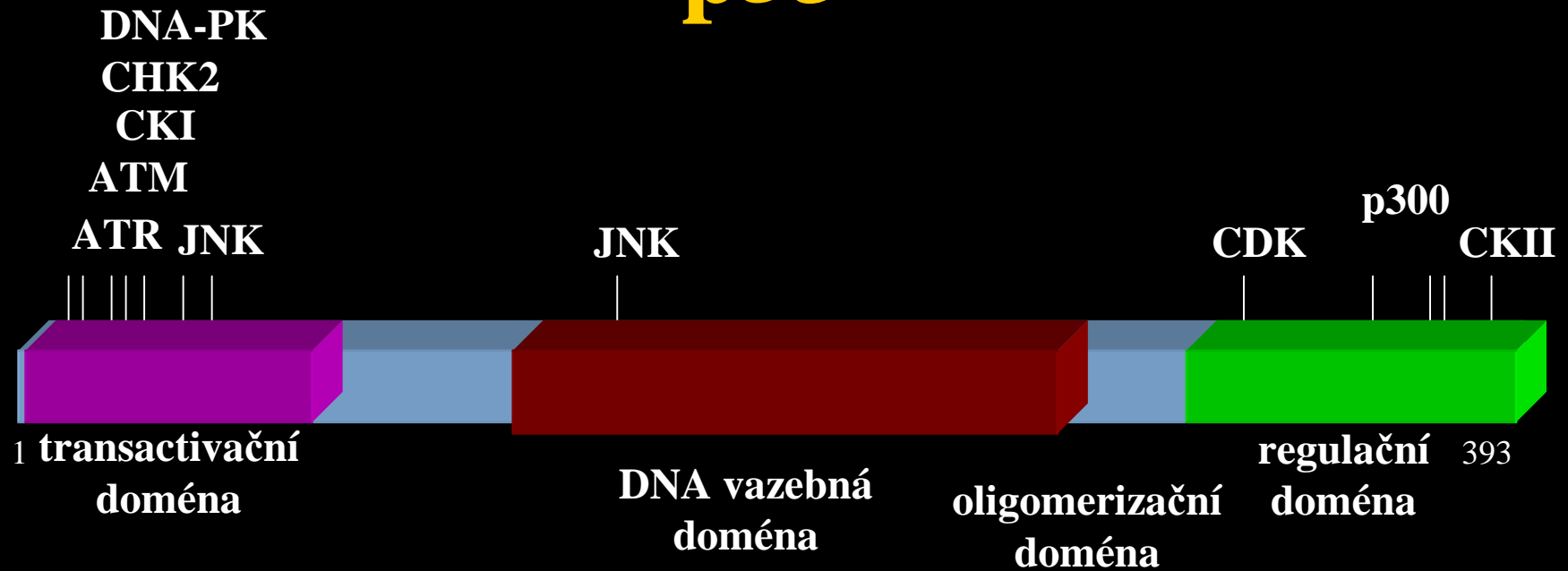
4281 = 8%



8%

8% prací v oblasti p53
cituje námi dosažené a
publikované výsledky.

p53



Mutace p53 nalezené v lidských nádorech.

„Strážce genomu“

CANCER

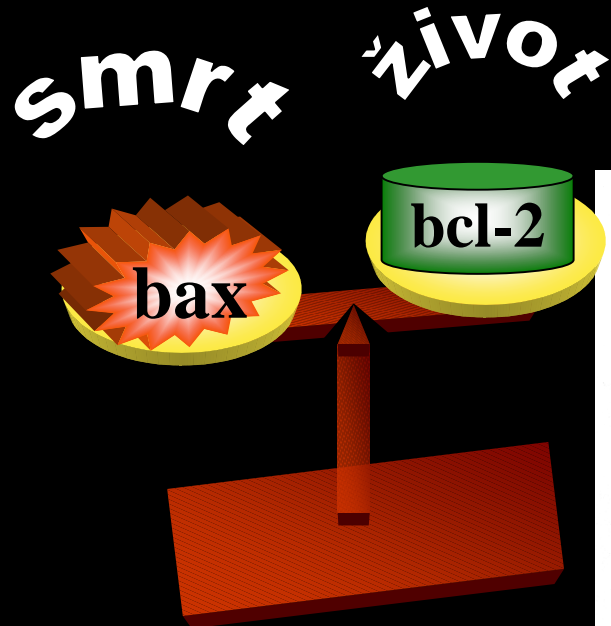
p53, guardian of the genome

D. P. Lane

1992

RESEARCH on the p53 protein is at fever pitch. In the past couple of years it has become clear that inactivation of its tumour-suppressor activity is an almost universal step in the development of human cancers¹. But what does normal p53 do that protects us so efficiently

MDM2 may, like the DNA tumour virus oncoproteins, simian virus 40 large T antigen, adenovirus E1b and papilloma virus E6, inactivate the tumour-suppressor activity of p53 by complexing to it. Amplification of MDM2 production may have the same functional effect



CANCER

A death in the life of p53

D. P. Lane

1993

THE papers on pages 847 and 849 of this issue^{1,2} establish the involvement of p53 in the induction of apoptosis by radiation and chemotherapeutic DNA-damaging drugs. This discovery brings together

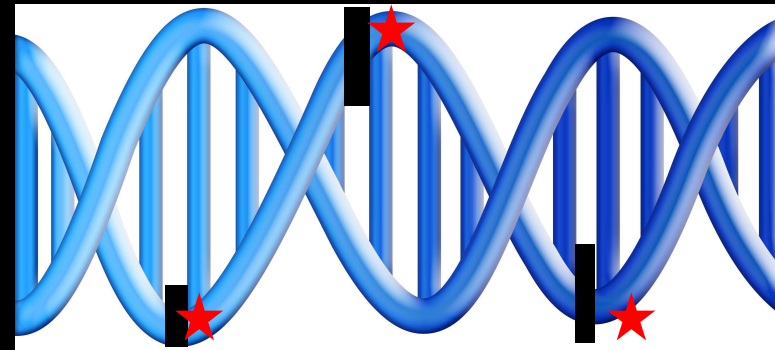
work in normal development^{12,13}.

The new studies provide compelling evidence in support of these concepts. Lowe *et al.*¹ and Clarke *et al.*² decided to investigate the role of p53 in a classic



STRES: nedostatek O₂
UV/γ záření
chemoterapeutika

★ poškození DNA



Funkční protein p53

Nefunkční protein p53

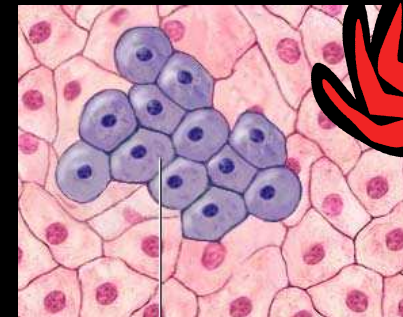
průchod
buněčným cyklem



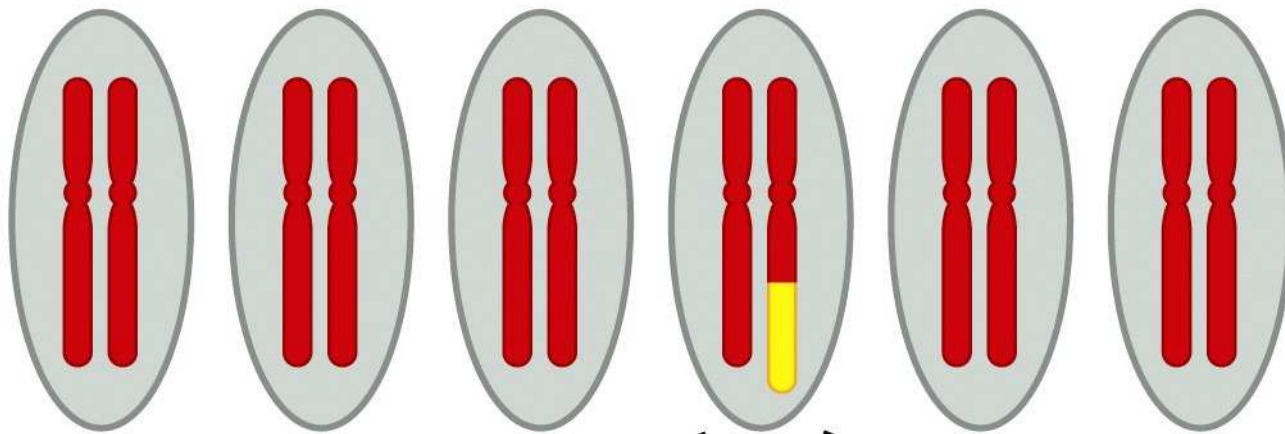
apoptóza



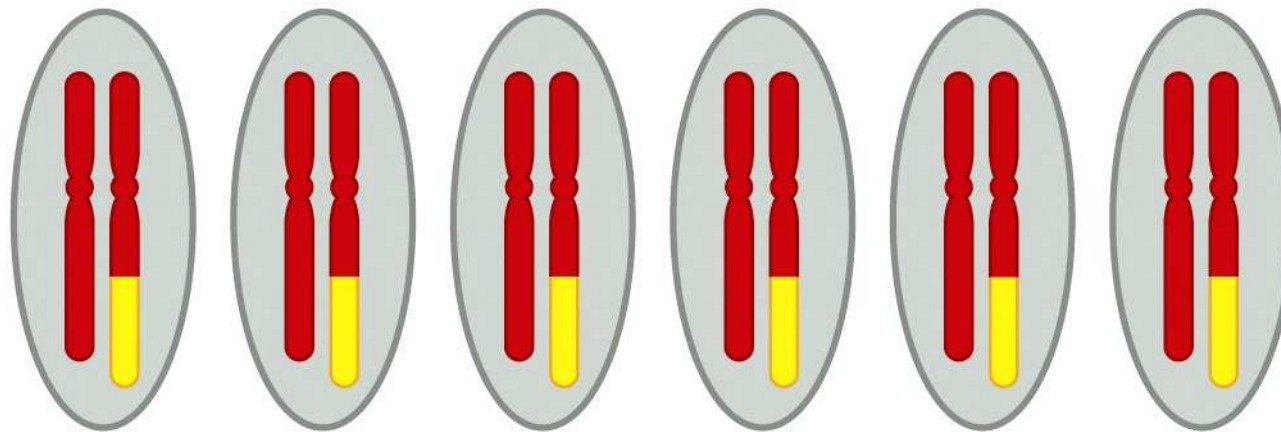
nádor



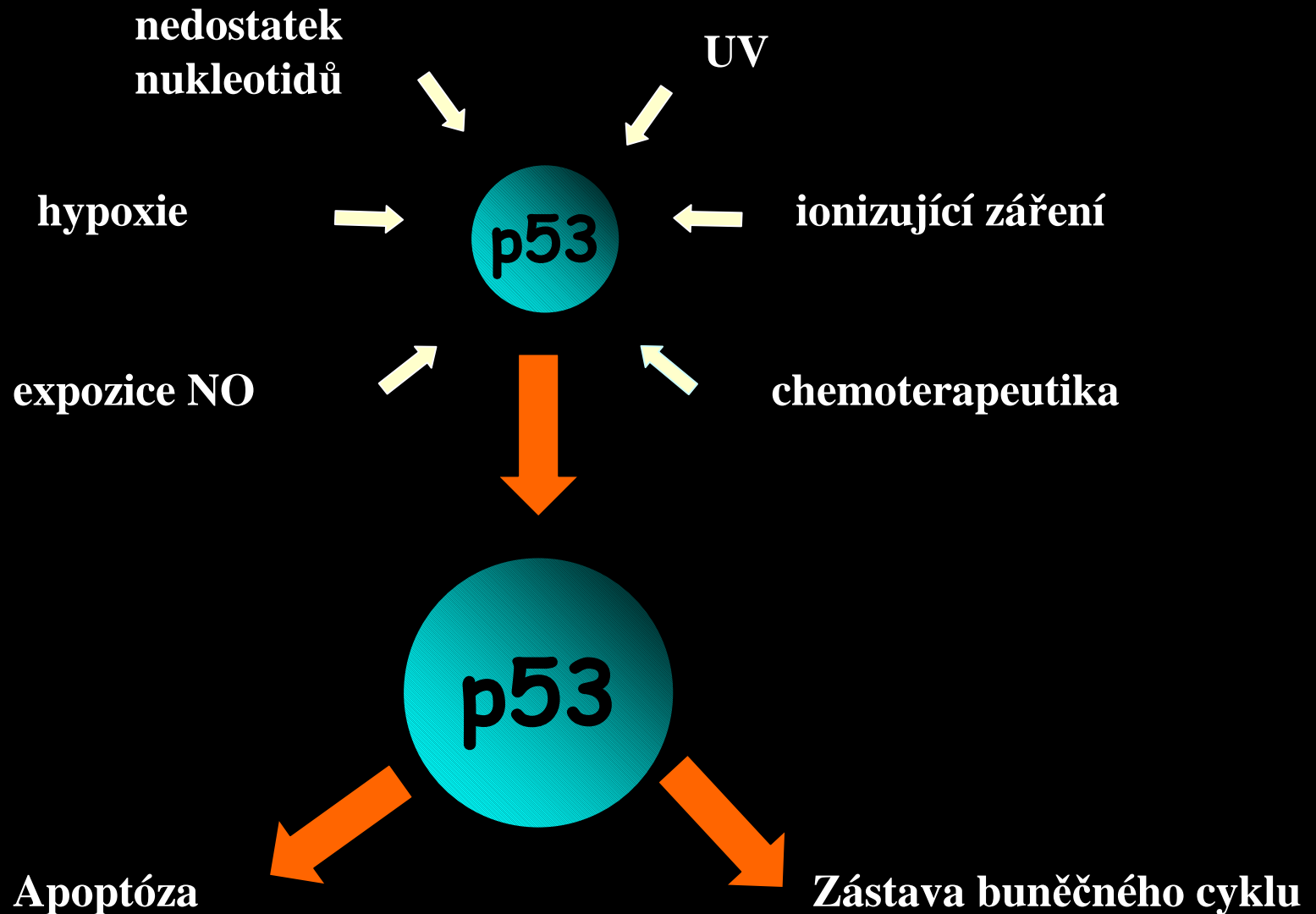
normální tkáň



nádorová tkáň



Akumulace funkčního proteinu p53



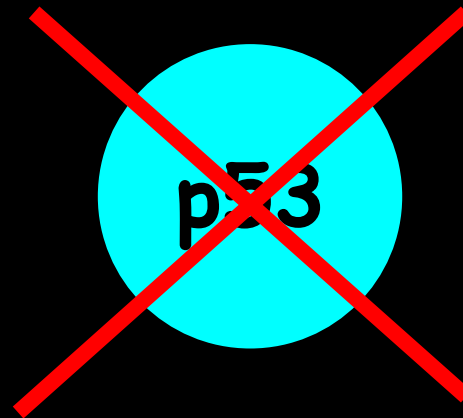
Ztráta funkce p53

Virové proteiny

HPV-E6, SV40-velký T antigen

Adenovirus-E1B

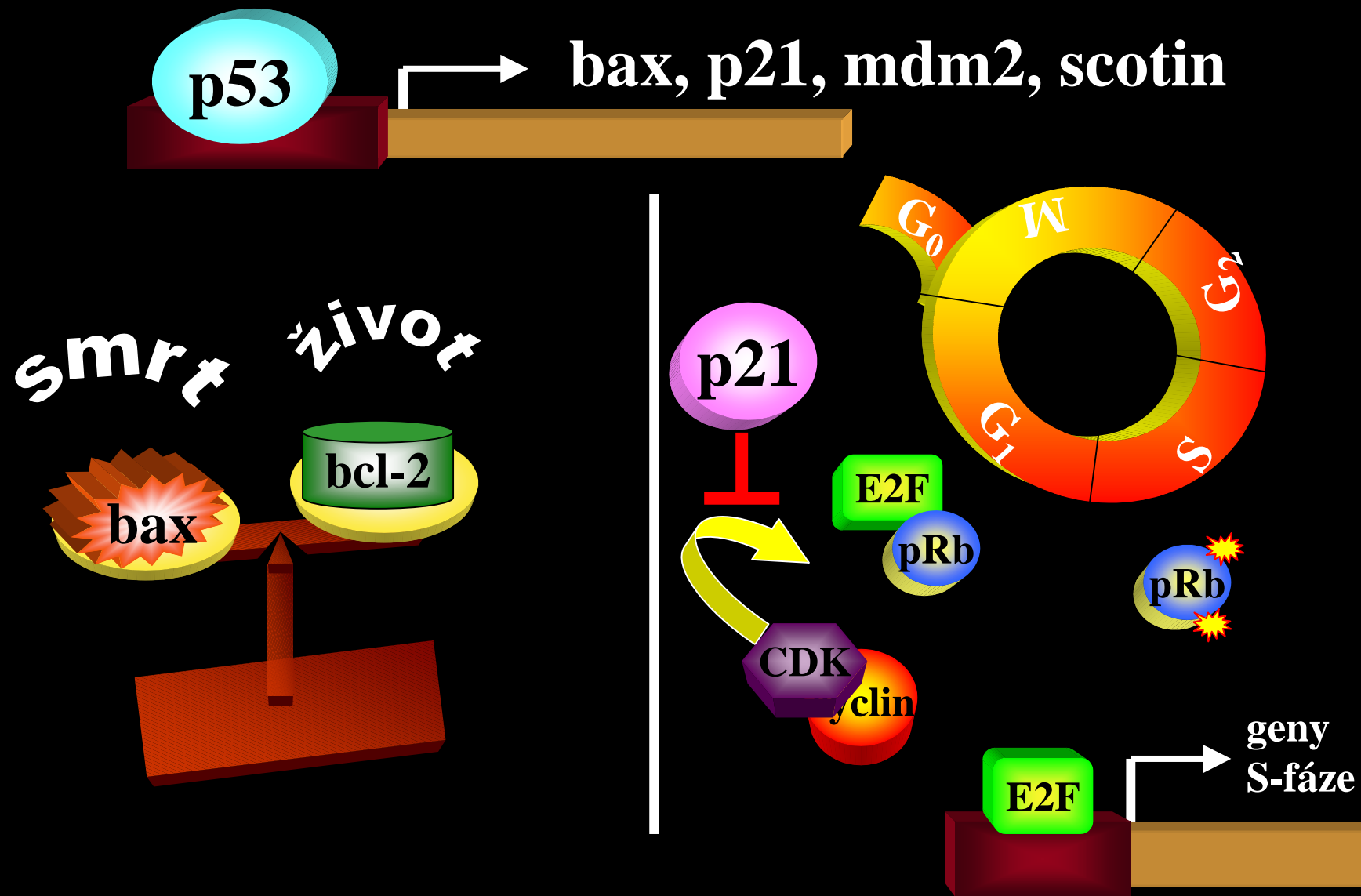
ATM and CHK2



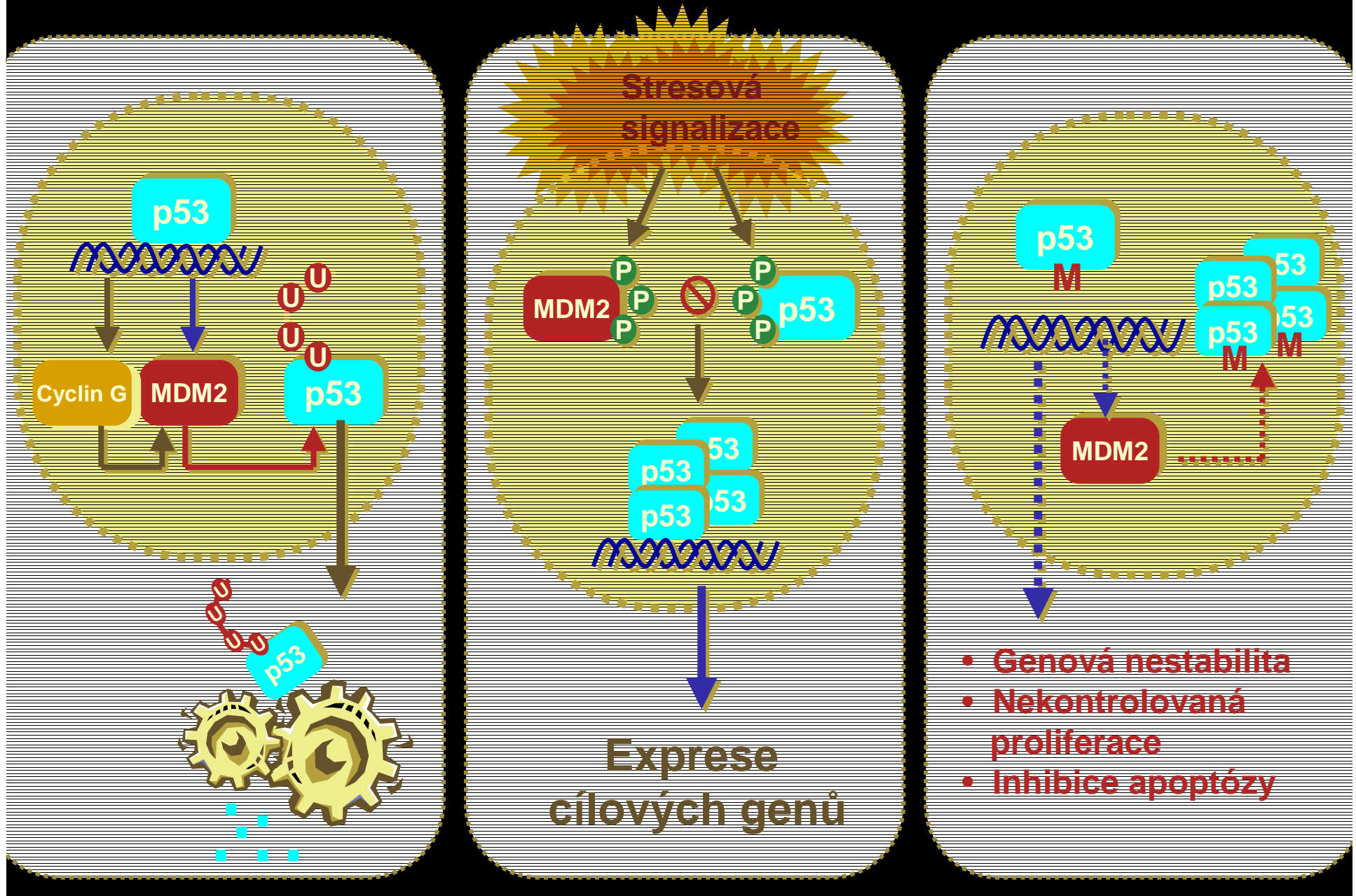
**Proteiny Mdm2, p14/Arf
oncogeny**

Mutace v genu *TP53*

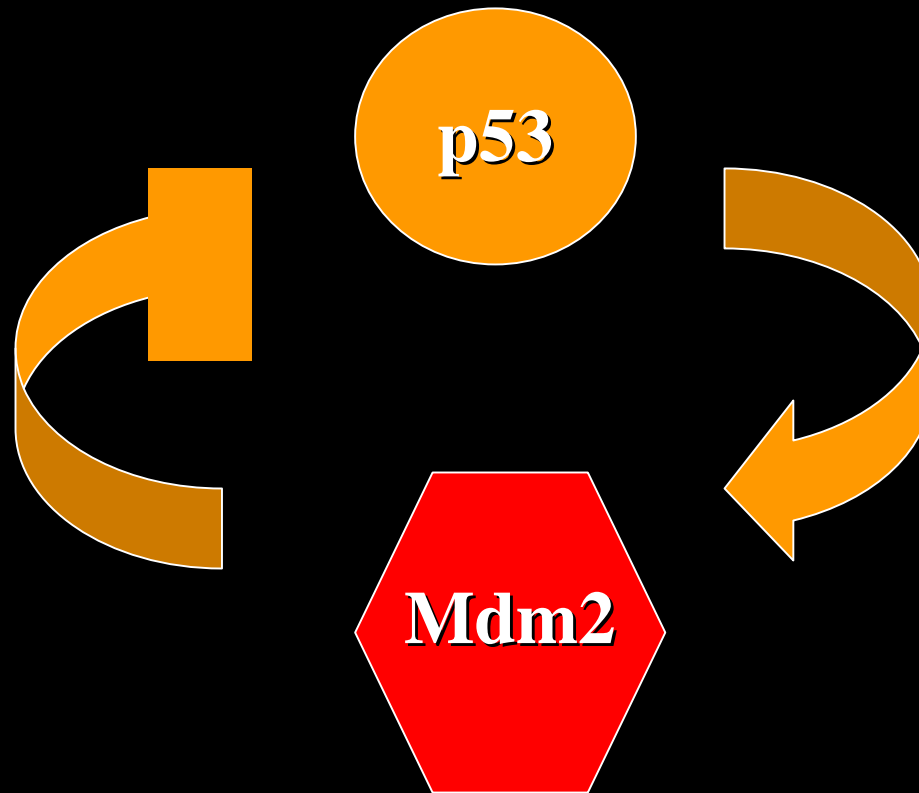
Normální funkce nemutovaného proteinu p53



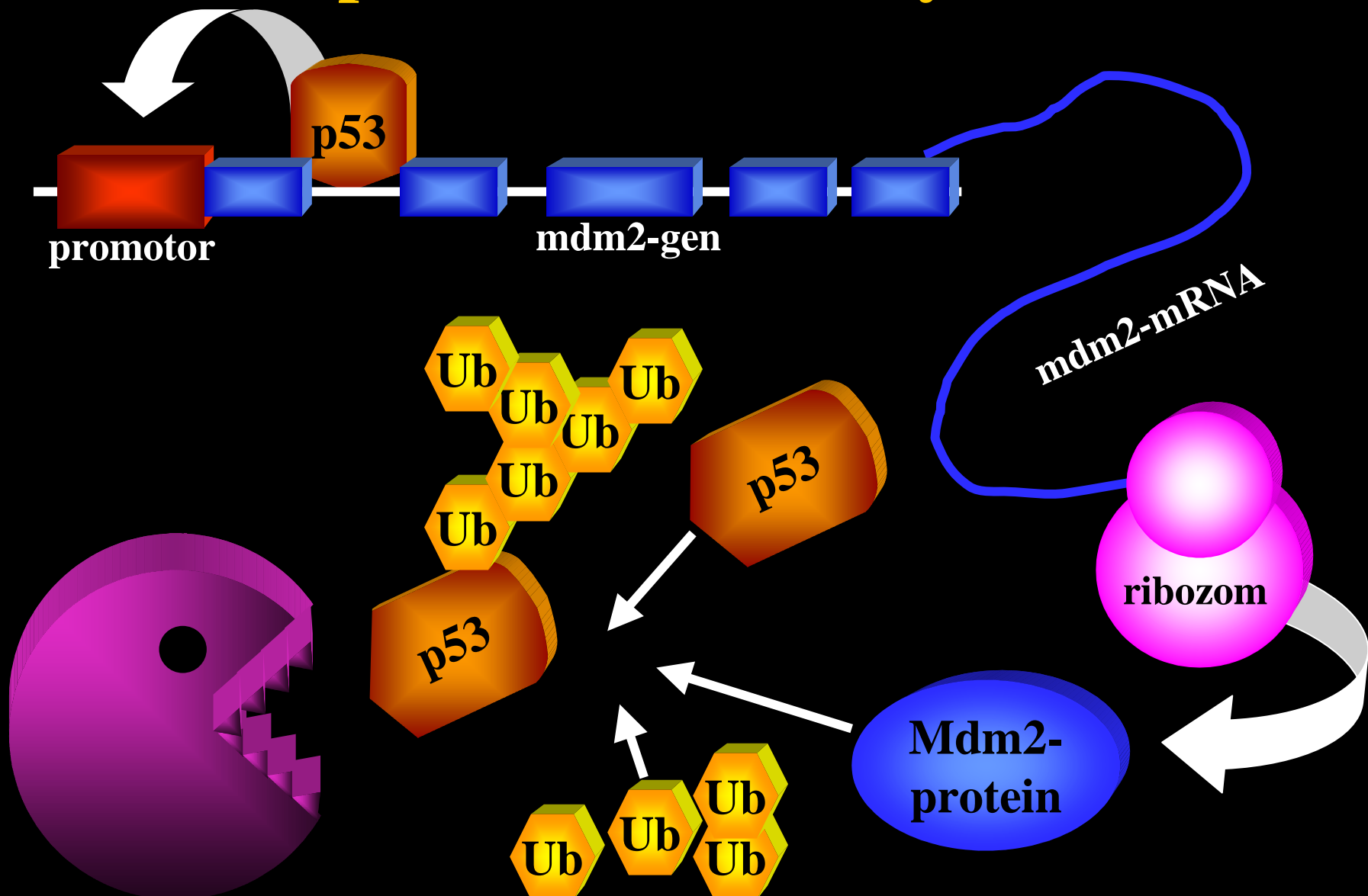
Hladina proteinu p53 v buňce



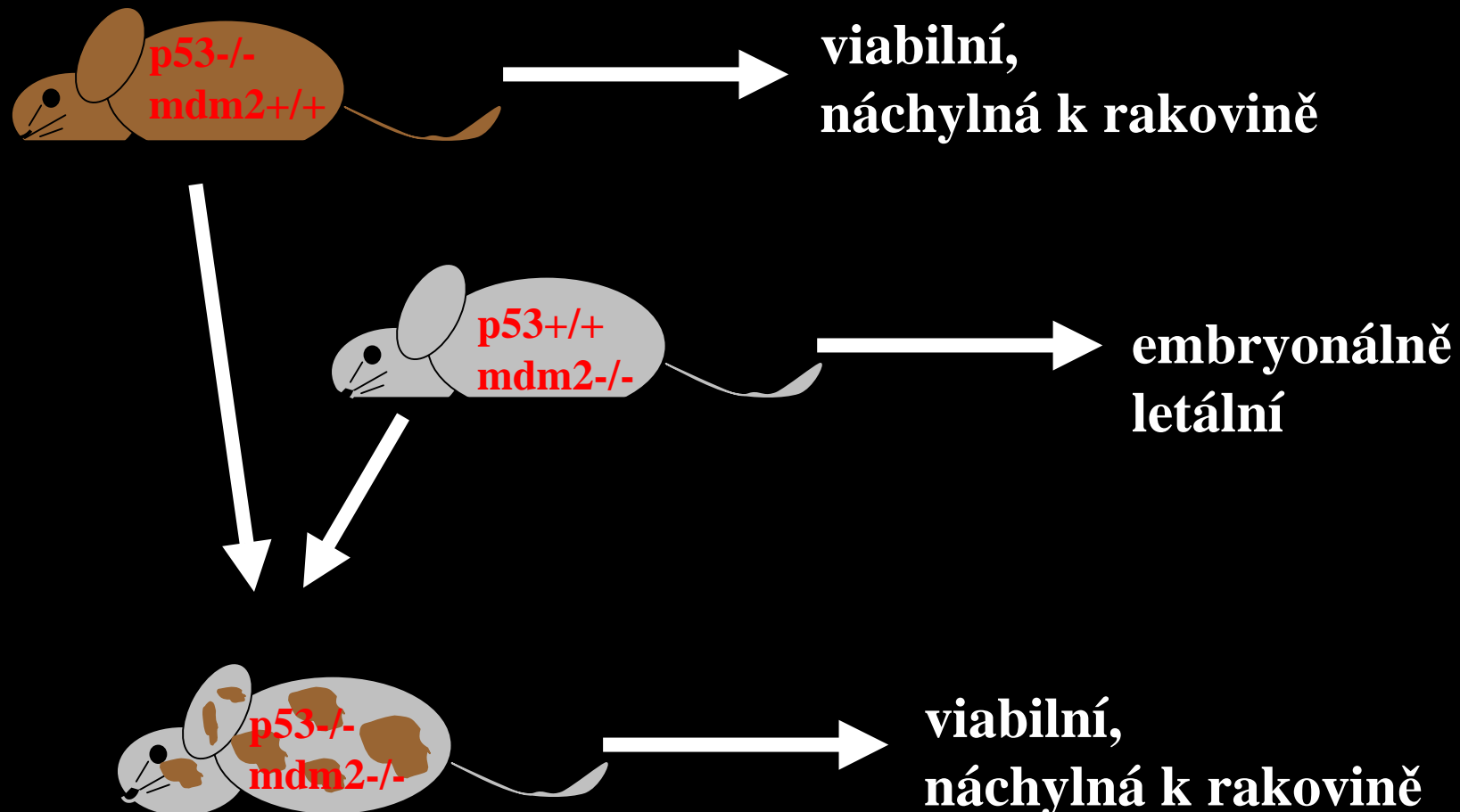
Model zpětnovazebné smyčky: nemutovaný protein p53



p53 a Mdm2 jsou spojeny negativní zpětnovazebnou smyčkou



Mdm2 brání p53, aby nás zabil



Shrnutí

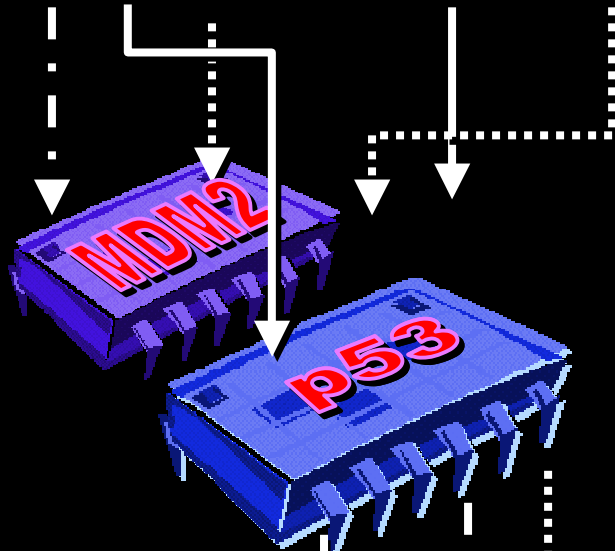
- **V normálních buňkách je hladina p53 neustále kontrolována prostřednictvím Mdm2 závislou degradací.**
- **Stresové podněty blokují proces degradace p53 a tím tento protein aktivují k ochraně buňky.**
- **Více než polovina nádorů postrádá tuto funkční dráhu díky výskytu mutací v proteinu p53.**
- **Funkční protein p53 chrání genom buňky.**

p53 a klinická praxe: jaká je budoucnost?

Celá řada nových poznatků o proteinu p53 a jím regulovaných drahách otevřela debatu, zda tyto nové informace mohou ovlivnit klinickou praxi.

Proč se protein p53 30 let po svém objevení nepoužívá v rutinní diagnostice?

ARF ATM ATR Chk2 Chk1



Apoptóza

**Zástava dělení
Reparace poškození**

**Nekontrolovaná proliferace
Insuficientní apoptóza**



Hladina p53
schopnost indukce

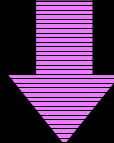
Stav genu
mutace, delece, LOH
izoformy

Posttranslační modifikace
fosforylace
acetylace

Konformace

DNA vazebná
kapacita

Interakce s proteiny:
transkripční aparát
stresové proteiny
inhibiční proteiny



Možnost predikce ? 

Terapie založená na stavu p53

„Léčba rakoviny”

Můžeme se
odvázat říci
„léčba
rakoviny“?

THE WORLD'S LARGEST SCIENCE & TECHNOLOGY MAGAZINE

THE WHAT'S NEW MAGAZINE

Popular Science



PDA
Cellphones
Smart & Sexy

Dare We Say Cure for Cancer?

This pill is saving lives
—and others like it
may save yours.

Radical New Jet
NEW YORK TO L.A.
IN RECORD TIME

WELCOME TO MARS
ON EARTH (Think Canada!)

THE ROTATING HOME
Watch the World Go 'Round



Time
MAGAZINE

Rakovina: obvyklé otázky

- Kdy bude rakovina vyléčena?
- Proč to ještě neumíme?
- Pomůže nám spaní pod krystaly?

Rakovina: světový problém

- 10 milionů úmrtí ročně
- 6 milionů nových případů ročně
- 22 milionů žijících postižených

Vzrůstající incidence ve stárnoucí populaci

Rakovina: klíčové strategie

- **Prevence**
- Včasná detekce
- Efektivnější využití dostupné terapie
- Nové léčebné postupy

Dieta a pohyb další hranice prevence



Aktivní prevence

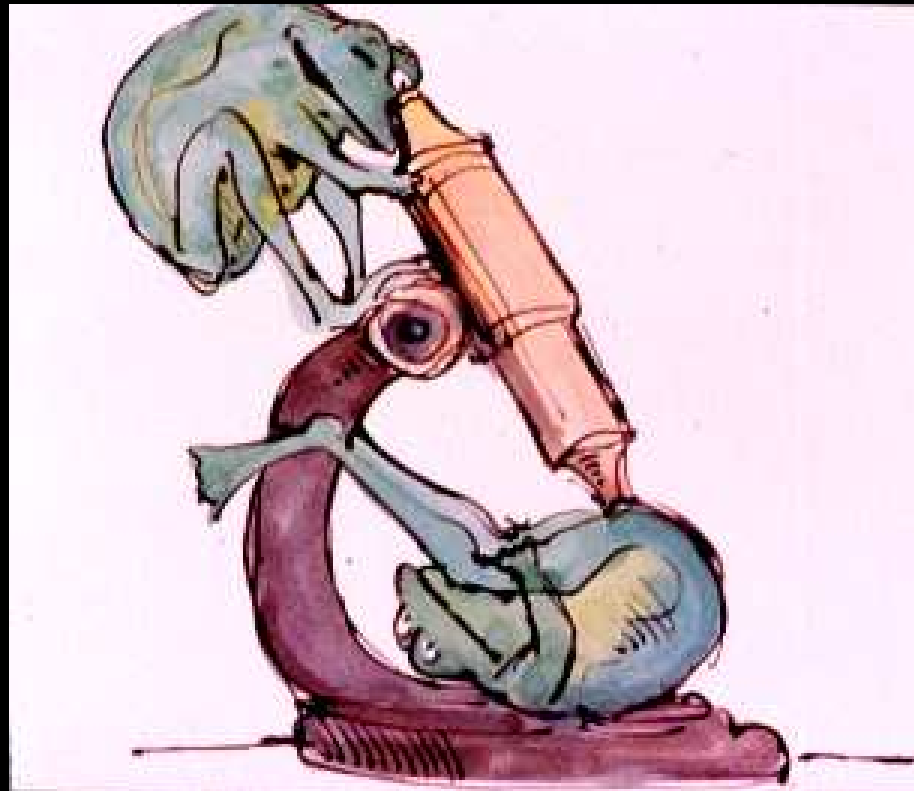
**Obrovský úspěch vakcíny proti
HPV?**

**Může být předejito až 250 000
úmrtím ročně!**

Rakovina: klíčové strategie

- Prevence
- **Včasná detekce**
- Efektivnější využití dostupné terapie
- Nové léčebné postupy

Screening



Vyhlídky screeningu

Přesnější

Levnější a rychlejší

Méně invazivní odběr vzorků

Pokroky v zobrazovací technice



**Co nás na screeningu
znepokojuje**

Používáme nejlepší metody?

Jsou výsledky vypovídající?

Vyplatí se?

Je screening vždycky efektivní?

- Nový test na rakovinu prostaty (PSA)
- Detekce o pět let dříve
- Beze změny léčby
- Beze změny mortality

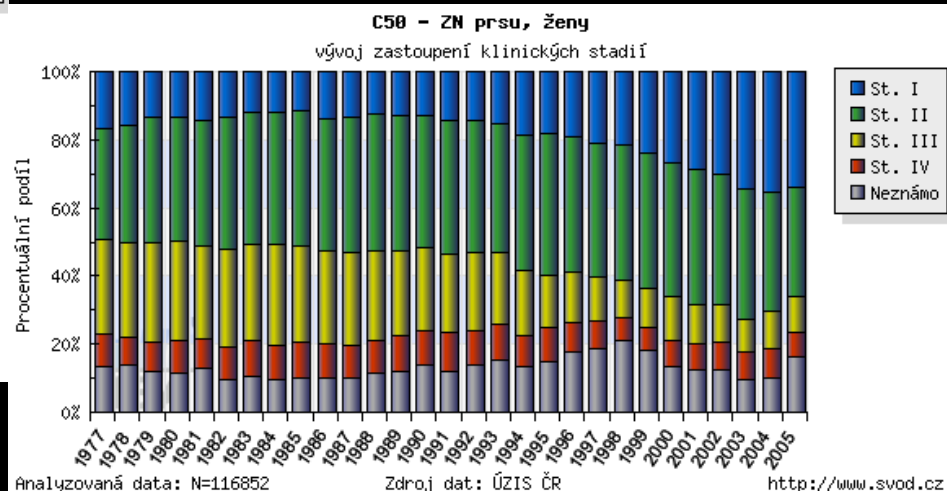
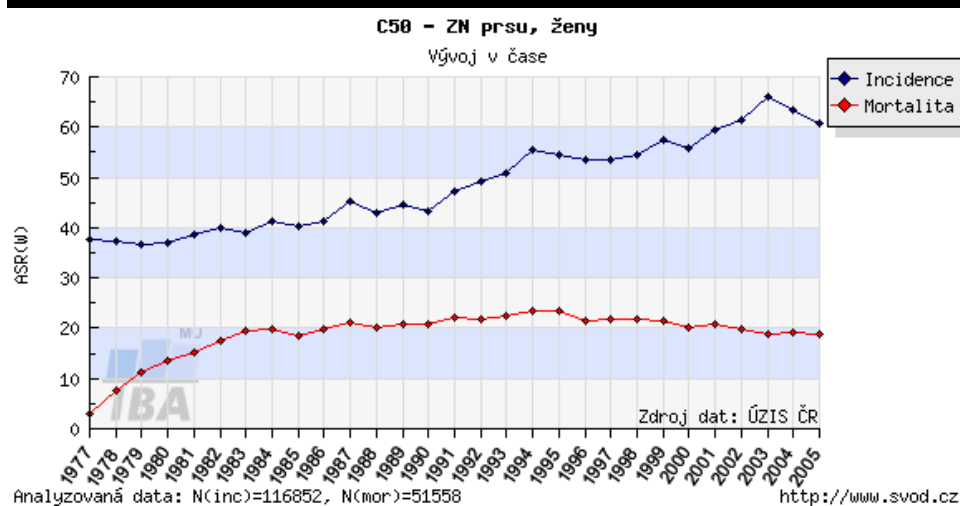
- Pacienti s karcinomem prostaty žijí o pět let déle!

- A jediné, co jsme udělali je, že jsme jim to řekli o pět let dříve

Je screening vždycky efektivní?

Karcinom prsu:

- operují se menší nádory
- v důsledku mamografického screeningu a lepších zobrazovacích metod
- pacientky s menšími nádory a dostupnou terapií mají větší šanci na trvalé vyléčení



Rakovina: klíčové strategie

- Prevence
- Včasná detekce
- Efektivnější využití dostupné terapie
- Nové léčebné postupy

Zdokonalená léčba

- **Dělejme totéž, ale lépe**

Medicína založená na důkazech

Audit

Klinické testy

Individualizovaná péče

Opatrně se statistikou a s tím, co čtete!

Rakovina: klíčové strategie

- Prevence
- Včasná detekce
- Efektivnější využití dostupné terapie
- **Nové léčebné postupy**

Nová léčba

- **Nové léky** Gleevec (Chronická myeloidní leukémie),
Iressa (plicní karcinom), Tarceva
(plicní karcinom)
- **Nové protilátky** Herceptin (anti-Her2, karcinomy prsu),
Avastin (anti-VEGF, střeva, a obecně ostatní
nádory), Erbitux (anti-EGFR, hlava, krk,
střeva)
- *Cílené na molekulární změny nádorových buněk*
- *Netoxické*
- *Efektivní*

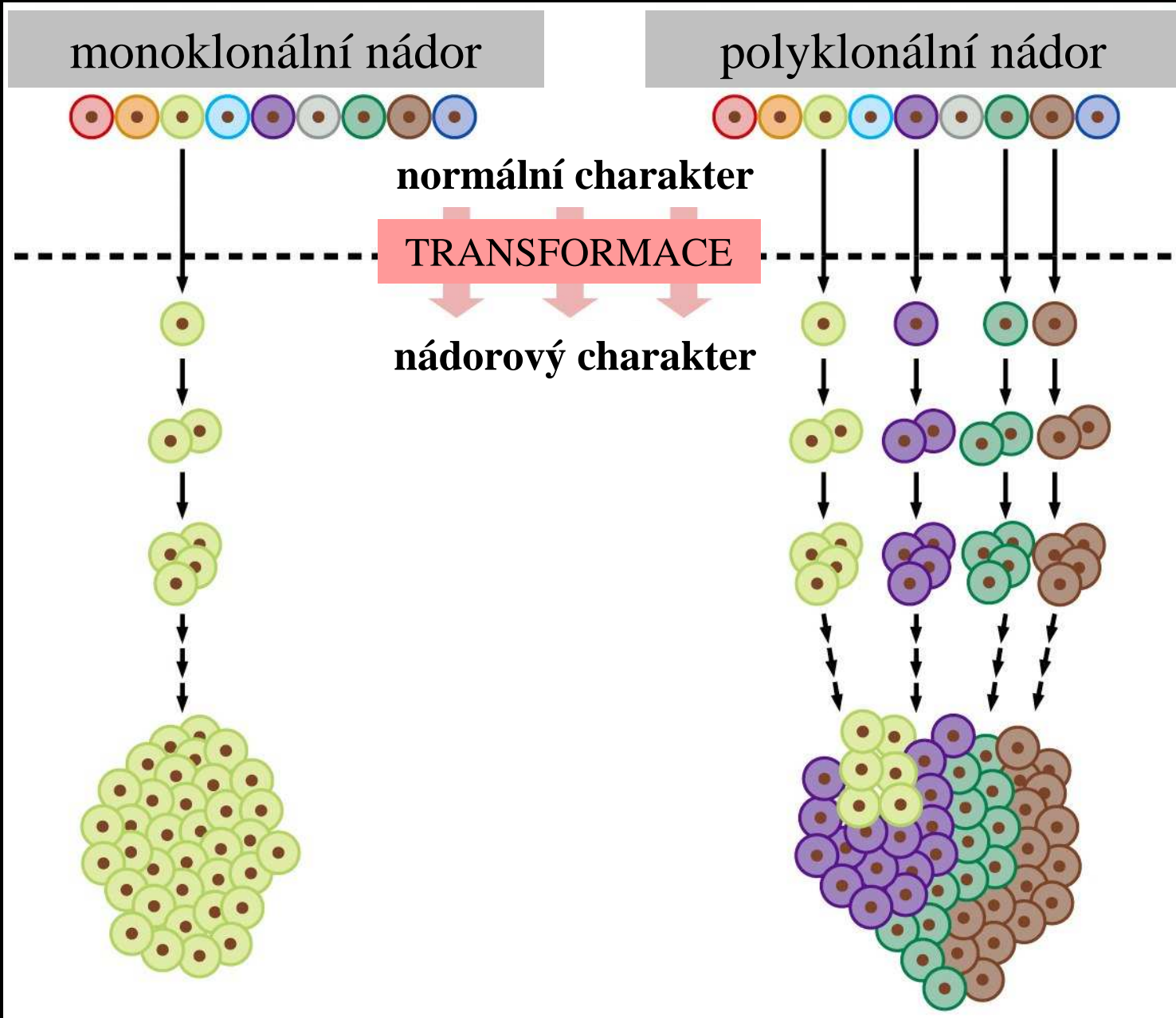
Hledání terapeutických cílů

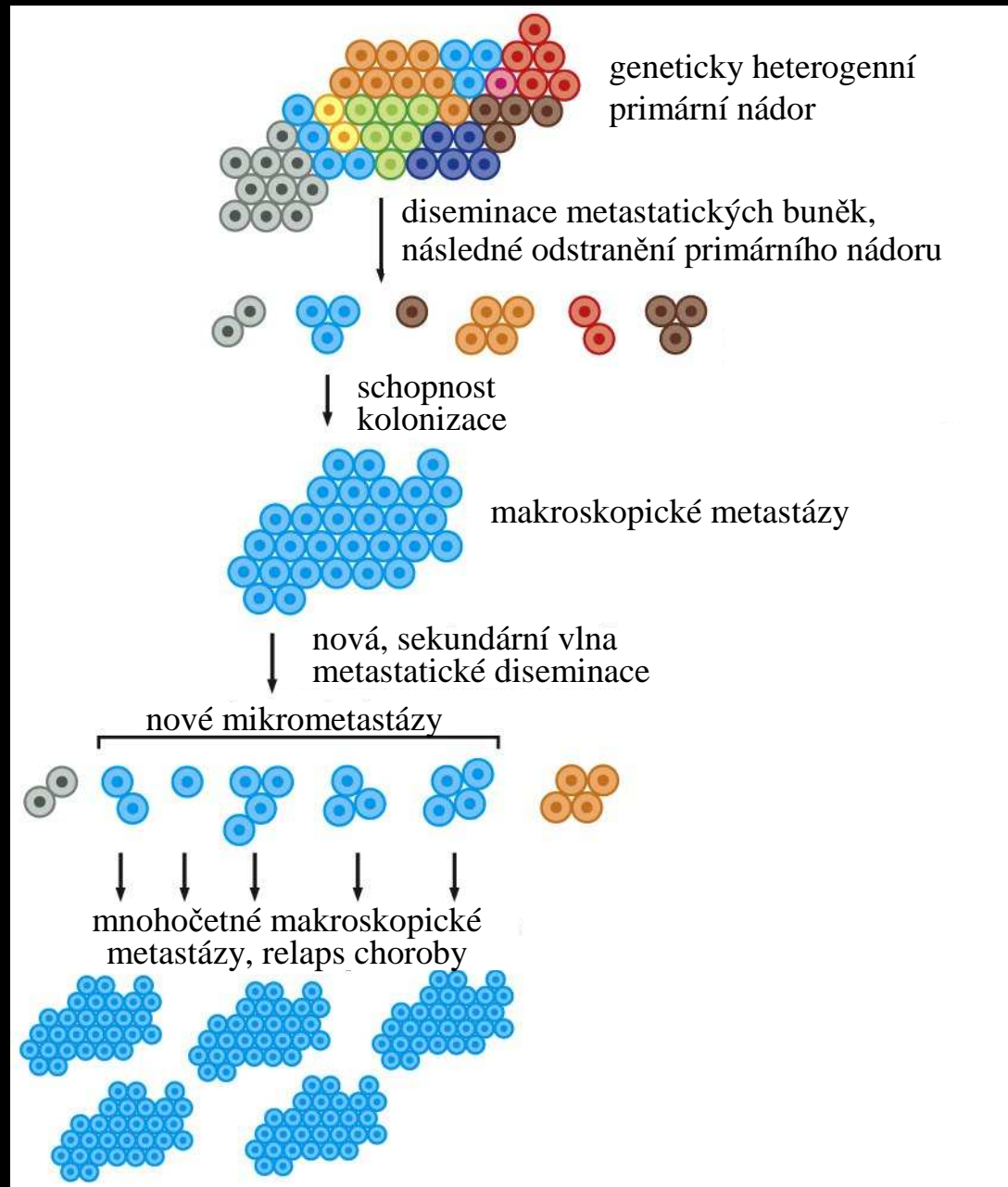
- Geny pozměněné v nádorových buňkách
-kódující protein
-jehož funkce může být ovlivněna lékem či protilátkou
- a umožňuje zabití nádorové, ale ne normální buňky



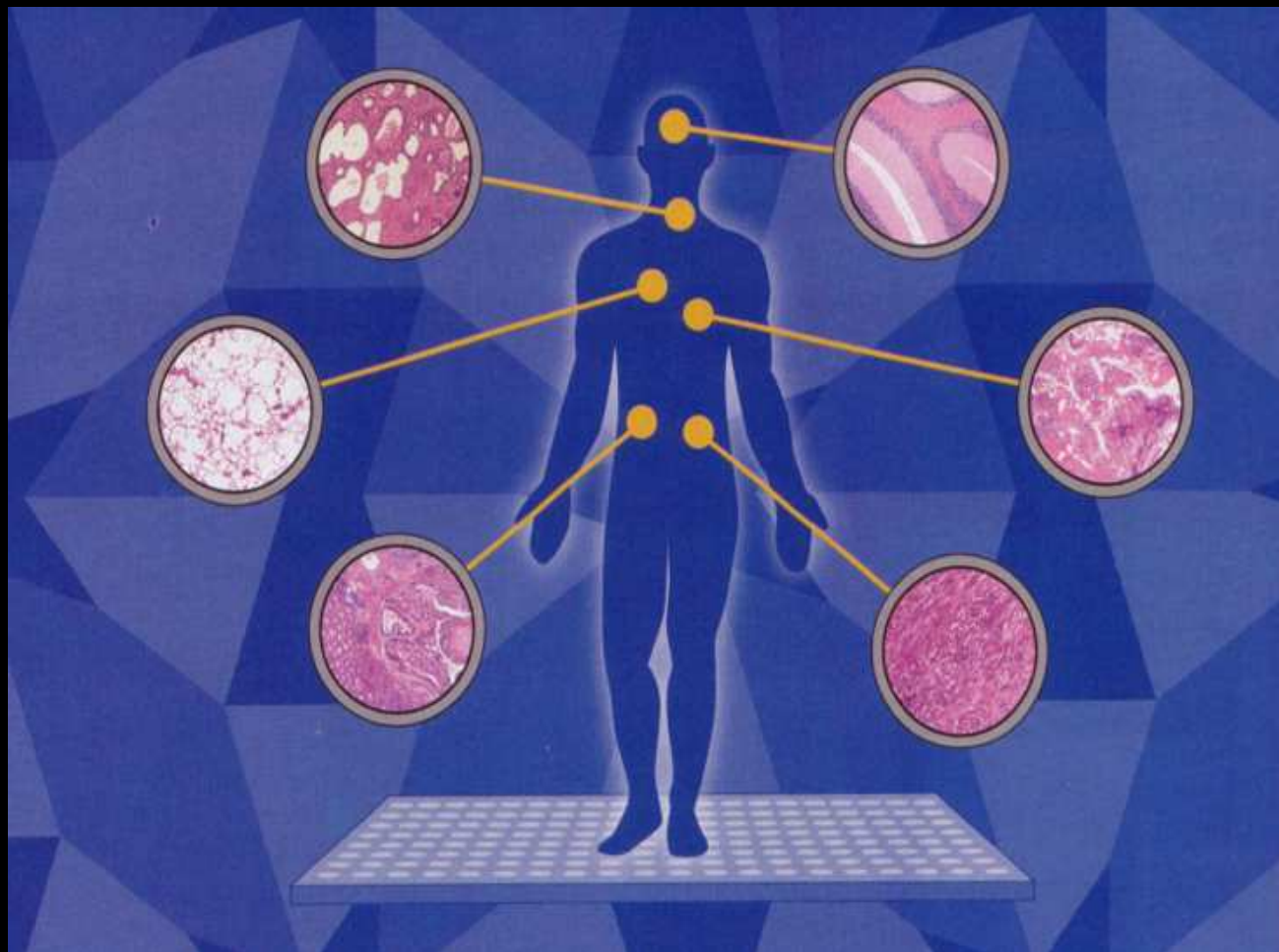
Definice nádorového genotypu a fenotypu

- **Kolik existuje typů rakoviny tlustého střeva?**
- **Který bude reagovat na „můj“ lék?**
- **Jak mohu tyto nádory snadno vybrat?**

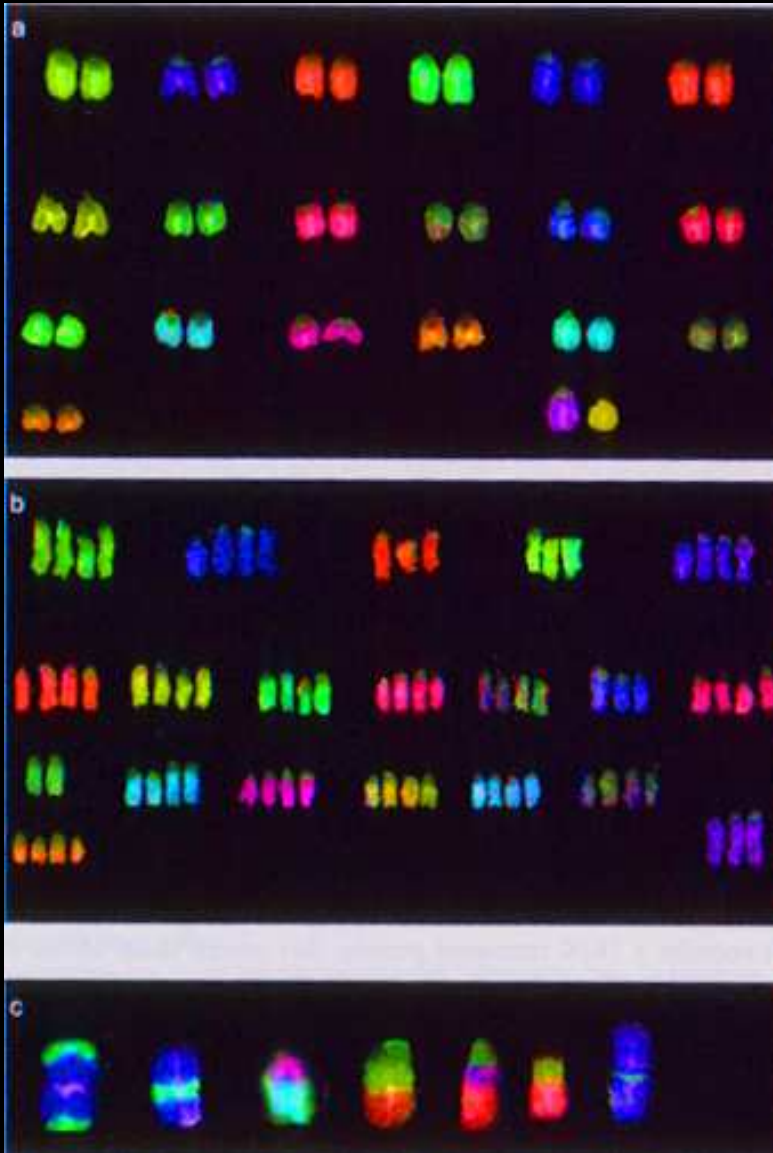




Tkáňové čipy



FISH analýza chromosomů



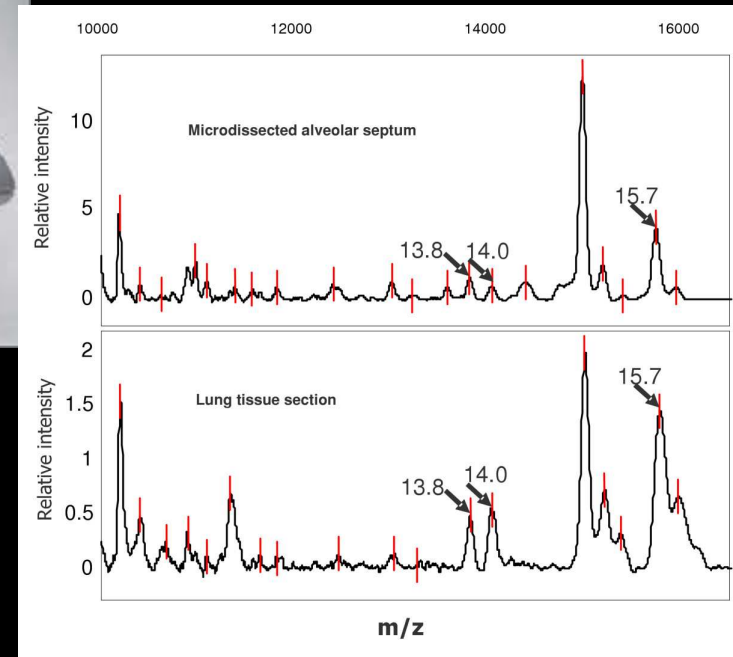
**Kdo by měl dostat Gleevec?
Kdo by měl dostat Herceptin?
Kdo by měl dostat?**

**Všechny tyto otázky
zodpoví FISH**

Čipy „se vším“



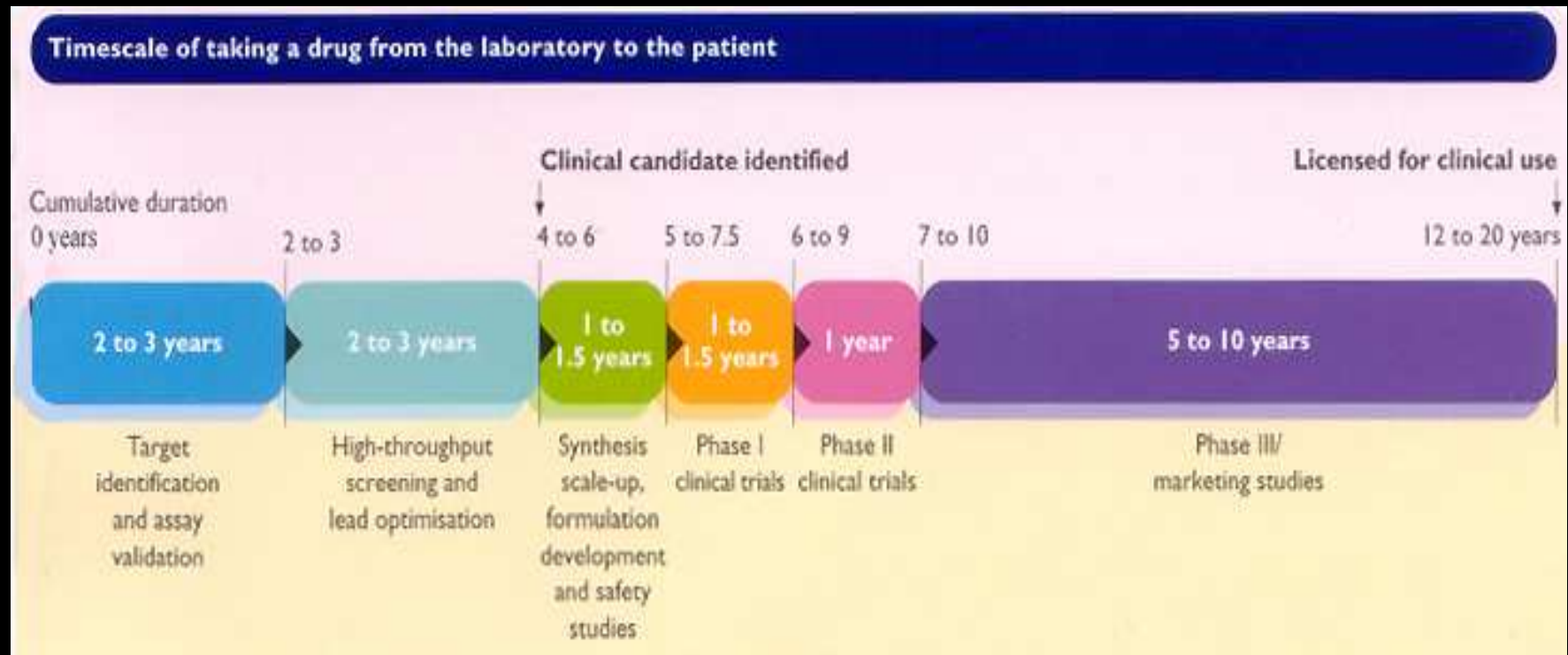
Proteinové čipy – SELDI-TOF MS



Hledání vhodného pacienta

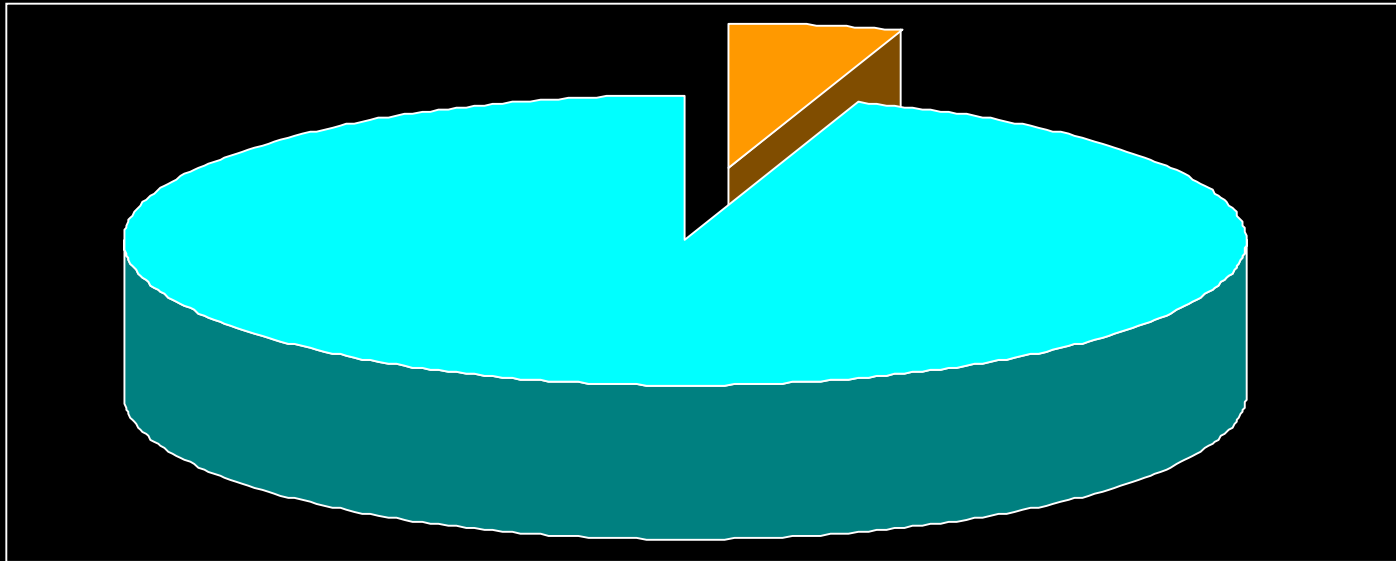
- **Dosahuje lék efektivních koncentrací?**
- **Zasahuje přímo nádor?**
- **Mohu měřit odpověď jednoduchou, neinvazivní cestou?**
- **Jaká je kvalita života pacienta?**

Vývoj nového preparátu



Vyhráváme nebo prohráváme válku s rakovinou?

úspěch
neúspěch



95% protinádorových látek v první fázi výzkumu se nedostane až do praxe...

**...ale ani ty, které uspějí nemusí být
zázračné...**

- **Erbitux 7 týdnů života**
- **Avastin 16 týdnů života**

... a jsou velmi drahé

- **Erbitux** **\$ 300,000 za rok života**
- **Avastin** **\$ 124,000 za rok života**

**National Institute for Health and Clinical Excellence
(NICE) v UK NHS řekla oběma:**

„NE“

toto „NE“ je na místě pro neléčitelné a pokročilé nádory!

V rozhodování je nutná určitá opatrnost ve výběru pacientů, protože tyto léky mohou mít efekt pro pacienty, u kterých byl odebrán malý nádor, nebyly nalezeny metastázy a chceme odstranit případné mikrometastázy.

**... protože výdaje za neúspěšných
95 % musí být získány zpět**

- **400 látek v klinických studiích, většinou proti rakovině.**
- **95% léčených pacientů nepomohly dostatečně.**
- **\$4000,000,000 promarněno (\$ 10,000,000 za fázi I).**
- **Farmaceutické společnosti utrací více za marketing než za výzkum.**

Proč rybaříme naslepo?

- **Vrťkáva (nejistá) věda**
- **Nevyhovující preklinické modely (problematika studií na zvířatech)**
- **Komerční tlak**
- **Nedostatek znalostí o pacientovi a profilu nádoru**
- **Občasné dramatické úspěchy**

Odovědí je celá řada

- Spolehlivá věda
- Cílená validace
- Podpora akademického výzkumu léčiv
- Nové modely a nástroje
- Účelné testování
- Biomarkery odpovědi
- Indie, Čína a Singapur!

Vatican Council debates agbiotech p4

UK to pursue contract clinical trials p5

Cancer trials get set for biomarkers p6

News in brief p11

News Feature: Signal transduction inhibitors p15

China approves first gene therapy

China became the first country to approve the commercial production of a gene therapy, and it is due to hit the market in early January. Despite technical hurdles and the wary attitude of regulatory authorities outside China, other countries are expected to soon follow suit.

On October 16, 2003, Shenzhen SiBiono GenTech (Shenzhen, China), obtained a drug license from the State Food and Drug Administration of China (SFDA; Beijing, China) for its recombinant Ad-p53 gene therapy for head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)—a cancer that accounts for about 10% of the 2.5 million annual new cancer patients in China. Sold under the brand name Genticine, the

“SiBiono’s approach is not a trivial one,” Jean-François Carmier, CEO of Transgene (Strasbourg, France) comments. “Introgen has been using a similar strategy for head and neck cancer and their product is showing encouraging results in Phase 3 trials” (see Table 1).

The success of SiBiono was in overcoming difficulties in developing the right system for delivering its adenoviral vector—considered an effective way of introducing a gene into tumor cells—without integrating the gene in the host cells’ chromosomes and creating genetic alterations. SiBiono has addressed safety concerns by carefully



Zhaohu Peng receives an approval certificate issued by China’s State Food and Drug Administration for Genticine, the world’s first commercial gene therapy.

Poděkování patří

**Masarykovu onkologickému ústavu, Brno
Grantovým agenturám podporujícím naši práci**

**Všem pracovníkům podílejícím se na řešení projektu,
externím spolupracovníkům
technickému personálu**

...bez nichž by nebylo možno výsledků dosáhnout.



Děkuji za pozornost